

生物胺降解菌株的筛选与鉴定

Screening and identification of biogenic amine degrading strains

杜雪 妥彦峰

DU Xue YOU Yan-feng

(大连工业大学食品学院, 辽宁 大连 116034)

(School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian, Liaoning 116034, China)

摘要:从实验室保藏的不同来源乳酸菌菌株中筛选出具有生物胺降解能力的菌株,测定其在不同盐浓度、pH 下的生长能力。结果表明,筛选出 3 株具有生物胺降解能力的菌株,经 16S rDNA 序列分析,菌株 HM22 鉴定为发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*),菌株 HM24 为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),菌株 YF10042 为粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*);其中植物乳杆菌 HM24 的降解能力最优,对色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺的降解率分别为 $(25.90 \pm 2.30)\%$, $(35.75 \pm 2.71)\%$, $(27.61 \pm 3.94)\%$, $(25.91 \pm 3.76)\%$, $(22.54 \pm 2.64)\%$, $(34.55 \pm 1.90)\%$, $(39.25 \pm 1.86)\%$, $(55.66 \pm 7.08)\%$;当盐浓度为 $4\% \sim 10\%$ 时,3 株菌株耐受力随盐浓度的增加而降低,;当 pH 为 $3.5 \sim 9.5$ 时,3 株菌株均可生长。

关键词:生物胺;降解;植物乳杆菌;发酵剂;高效液相色谱

Abstract: Strains with biodegradability of biogenic amines were screened from lactic acid bacteria strains from different sources preserved in the laboratory, and their growth ability at different salt concentrations and pH values were determined. The results showed that three strains with the capability of degrading biogenic amines were screened out. Based on 16S rDNA sequence analysis, strain HM22 was identified as *Lactobacillus fermentum*, strain HM24 as *Lactobacillus plantarum*, and strain YF10042 as *Enterococcus faecalis*. Among them, *Lactobacillus plantarum* HM24 has the best degradation ability. The degradation rates of tryptamine, phenethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermidine and spermine are $(25.90 \pm 2.30)\%$, $(35.75 \pm 2.71)\%$, $(27.61 \pm 3.94)\%$, $(25.91 \pm$

$3.76)\%$, $(22.54 \pm 2.64)\%$, $(34.55 \pm 1.90)\%$, $(39.25 \pm 1.86)\%$, $(55.66 \pm 7.08)\%$, respectively. When the salt concentration is $4\% \sim 10\%$, the tolerance of 3 strains decreased with the increase of salt concentration; When pH is $3.5 \sim 9.5$, all three strains can grow.

Keywords: biogenic amine; degradation; *Lactobacillus plantarum*; starter; high performance liquid chromatography

生物胺是由相应的氨基酸经脱羧作用产生,是维持正常生理功能的必需物质,但摄入过量会导致头晕、呕吐、高血压等不良症状,危害身体健康^[1]。发酵豆制品、鱼类制品、乳制品中均有生物胺存在^[2]。目前,常用的控制生物胺的手段主要是通过控制产品生产温度、pH 值、盐浓度^[3],或者使用辐照^[4]等方法。但此方法会在一定程度上影响产品品质,利用生物胺脱羧酶活性较低或者具有生物胺氧化酶活性的菌株作用发酵剂发酵食品,可以控制发酵食品中的生物胺含量^[5-6]。邓红梅等^[7]从发酵香肠中分离得到了具有生物胺减少能力的模仿葡萄球菌,该菌可降低 MRS 培养液中色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺及酪胺含量。吴燕燕等^[8]从咸鱼中分离获得了能够降解腐胺、尸胺、组胺、酪胺的鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌。

试验拟以实验室保藏的疑似乳酸菌株为试验菌株,筛选出能降低培养液中色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺含量的菌株,并测定该菌株的生长曲线、耐盐性以及不同 pH 值下的生长能力,旨在为控制发酵食品中生物胺含量提供备选菌株。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

疑似乳酸菌菌株:分别从东北传统大酱、新疆发酵酸奶以及婴儿粪便中分离得到,共 121 株,大连工业大学大连市益生菌功能特性研究重点实验室。

1.2 主要试剂

20%氨水:分析纯,天津大茂化学试剂厂;

基金项目: 国家科技部十三五重点研发项目(编号:2018YFC1604102)

作者简介:杜雪,女,大连工业大学在读硕士研究生。

通信作者:妥彦峰(1977—),男,大连工业大学副教授,博士。

E-mail: tyfjq@aliyun.com

收稿日期:2020-04-15

无水碳酸钠:分析纯,天津市瑞金特化学品有限公司;

色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺:色谱纯,源叶生物试剂有限公司;

丹磺酰氯、乙腈:色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;

MRS 培养基:北京陆桥技术股份有限公司;

正己烷:分析纯,生工生物工程(上海)股份有限公司;

三氯乙酸:分析纯,阿拉丁生物试剂有限公司。

1.3 主要仪器与设备

pH 计:S210-K 型,瑞士 METTLER TOLEDO 公司;

冷冻离心机:FS-1C-50 型,德国 HERMLE Labortechnik GmbH 公司;

恒温振荡器:DKZ 型,上海一恒科技有限公司;

数控超声清洗仪:KQ5200DE 型,昆山市超声仪器有限公司;

微生物培养箱:DNP-9082 型,上海精密实验设备有限公司;

液相色谱仪:S6000 型,广东华普科技股份有限公司;

酶标仪:Multiskan FC 型,美国 Thermo 公司;

全自动生长曲线分析仪:Bioscreen C 型,上海谓载商贸发展有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 生物胺降解菌株的筛选 参照吴燕燕等^[8]的方法并修改。将菌株活化 3 代,按 2%接种量接种至 pH 5.5,含 8 种生物胺的 30 mL MRS 培养基中,30 ℃培养 48 h,以未接种的 MRS 培养基为对照,4 000 r/min 离心 10 min,测定上清液中生物胺含量,并按式(1)计算降解率。

$$A = \frac{\omega - \omega_1}{\omega} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

A——生物胺降解率,%;

ω ——对照组生物胺含量,mg/kg;

ω_1 ——处理组生物胺含量,mg/kg。

1.4.2 生物胺的测定 参照文献^[9-10]的方法并进行修改。

(1) 生物胺标准品的制备:准确称取色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺各 10 mg,用 0.1 mol/L HCl 定容至 100 mL,分别制备成 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、25.0、50.0 mg/L 系列浓度的生物胺标准溶液。

(2) 样品衍生化:取 1.4.1 中离心后的菌液 750 μ L 于 2 mL EP 管中,加入 150 μ L 饱和碳酸钠溶液和 750 μ L 丹磺酰氯,震荡混匀,45 ℃水浴 30 min,加入 150 μ L 氨水,混匀,再加入 200 μ L 乙腈,混匀,离心,过 0.22 μ m 滤膜,待测。

(3) 高效液相色谱(HPLC)分析:HPLC 洗脱梯度如表 1 所示。流动相 A 为水,流动相 B 为乙腈;色谱柱为华普 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm×5.0 μ m);流速 1.0 mL/min;柱温 40 ℃;进样体积 20 μ L;紫外检测波长 235 nm。

表 1 HPLC 洗脱梯度

Table 1 HPLC elution gradient

洗脱时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	45	55
10	45	55
15	35	65
20	20	80
25	20	80
30	10	90
33	10	90
35	45	55

1.4.3 生物胺降解菌株鉴定 根据细菌 16S rDNA 序列的 V3-V4 区设计引物 338F(ACTCCTACGGGAGGCAG-CAG)和 806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)。通过 PCR 扩增进行 16S rDNA 序列分析(上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.4.4 生物胺降解菌株生长曲线 将菌株 HM22、HM24、YF10042 接种至 MRS 培养基中,全自动生长曲线分析仪培养温度 37 ℃,每隔 2 h 测定菌株培养液在 600 nm 处吸光度值,绘制生长曲线^[11]。

1.4.5 生物胺降解菌株的耐盐性能 参照徐鑫等^[12]的方法并修改,MRS 培养液中 NaCl 浓度分别为 0%,2%,4%,6%,8%,10%,121 ℃灭菌 20 min。将筛选出的 3 株菌株接种至含不同 NaCl 浓度的无菌 MRS 液体培养基中,37 ℃培养 24 h,测定菌液在 600 nm 处吸光度值。以乳酸菌接入不含 NaCl 的 MRS 培养液为对照组;未接种乳酸菌的对应盐浓度的 MRS 培养液为空白组。按式(2)计算抑制率。

$$\omega = \frac{A_1 - A_2}{A_1 - A_0} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:

ω ——抑制率,%;

A_0 ——空白组 OD_{600 nm} 值;

A_1 ——对照组 OD_{600 nm} 值;

A_2 ——处理组 OD_{600 nm} 值。

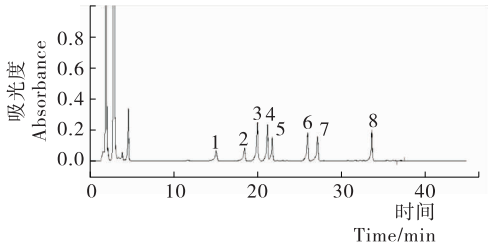
1.4.6 pH 值对生物胺降解菌株生长能力的影响 将 3 株菌株分别接种至 pH 值为 3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、8.5、9.5 的 MRS 液体培养基中,37 ℃培养 24 h,测定 OD_{600 nm},以不接种任何乳酸菌的各种 pH 的培养液为空白,以 OD_{600 nm} 值评价其耐酸能力^[13-14]。

1.4.7 统计分析 所有指标均重复测定 3 次,采用 SPSS 23.0 软件进行数据统计分析,比较各数据间的显著差异性($P<0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 生物胺标准图谱及标准曲线

由图 1 可知,8 种生物胺在 35 min 内能很好地分离,并依此确定了各生物胺标准品的保留时间,说明此方法具有良好的分离检测生物胺的效果。



1. 色胺 2. 苯乙胺 3. 腐胺 4. 尸胺 5. 组胺 6. 酪胺 7. 精胺 8. 亚精胺

图 1 生物胺混合标准品 HPLC 色谱图
Figure 1 HPLC chromatogram of biogenic amine mixed standard

由表 2 可知,8 种生物胺的峰面积与其浓度呈良好的线性关系,相关系数均 $>0.998\ 0$,说明采用 HPLC 法对于定量测定样品中生物胺具有良好的可靠性^[15]。

2.2 生物胺降解菌株的筛选

由图 2 可知,菌株 HM24 和 4-6 对精胺的降解率达

表 2 8 种生物胺回归方程及相关系数
Table 2 Regression equations and determinants of eight biogenic amines

生物胺	回归方程	相关系数
色胺	$y=52.230x-15.334$	0.999 3
苯乙胺	$y=57.308x-25.921$	0.999 3
腐胺	$y=141.881x-34.027$	0.998 9
尸胺	$y=119.580x-53.923$	0.999 2
组胺	$y=67.503x+42.733$	0.999 7
酪胺	$y=98.819x-6.0174$	0.999 9
亚精胺	$y=87.234x+16.619$	0.999 4
精胺	$y=89.861x+58.064$	0.999 5

50%以上;菌株 YF10042 和 HM24 对亚精胺的降解能力 $>30\%$;菌株 YF10042、HM24 及 HM22 对色胺的降解能力 $>20\%$;菌株 HM24 对组胺的降解能力为 $(22.54\pm 2.64)\%$,显著高于其他菌株;菌株 YF10042、HM24 及 HM22 对苯乙胺的降解能力均 $>20\%$,其中菌株 HM24 对苯乙胺的降解能力达 $(35.75\pm 2.71)\%$;菌株 YF10042、HM24 及 HM22 对 8 种生物胺均有降解作用,且对色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺和组胺的降解率显著高于其他菌株,同时对酪胺、精胺和亚精胺的降解率也较高,均高于邓红梅等^[6]的研究结果,故选取菌株 YF10042、HM24 和 HM22 进行后续试验。

2.3 生物胺降解菌株的鉴定

将筛选出的菌株 HM22、HM24 和 YF10042 在 MRS 固体培养基上培养 48 h,其菌落形态和经革兰氏染色的菌体特征^[16]如表 3 所示。

表 3 菌落形态与菌体形态
Table 3 Colony morphology and thallus morphology of strains

菌株	菌落形态	个体特征
HM22	椭圆形或圆形,乳白色,表面光滑	革兰氏染色阳性,短杆状
HM24	椭圆形或圆形,乳白色,表面光滑	革兰氏阳性,杆状
YF10042	椭圆形或圆形,乳白色,表面光滑	革兰氏阳性,球状

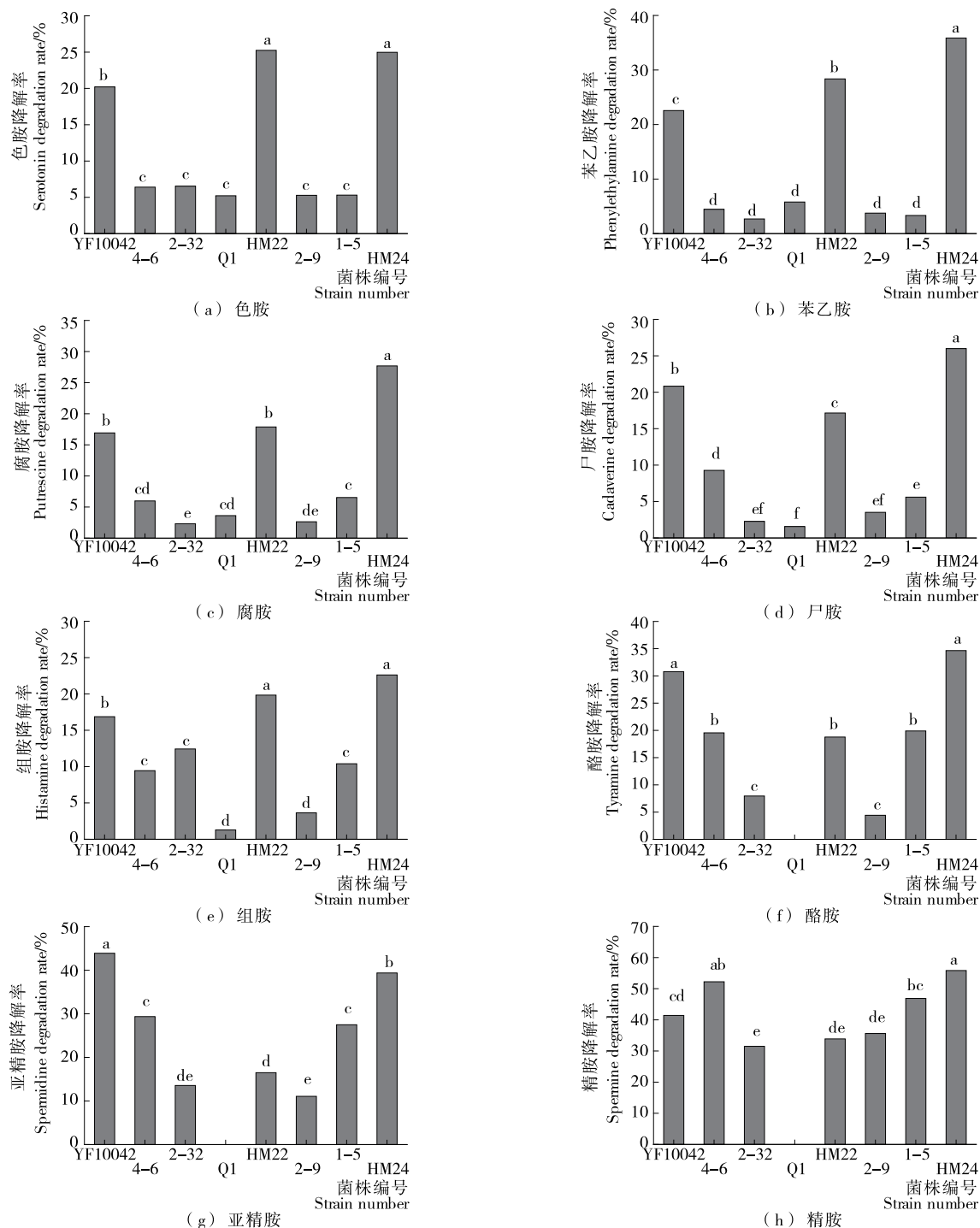
将筛选得到的菌株按《乳酸菌分离鉴定及其试验方法》的方法进行生理生化鉴定,将试验结果与《常见细菌系统鉴定手册》进行对比^[17](表 4),初步判断菌株 HM22 为发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*),菌株 HM24 为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),菌株 YF10042 为粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)。

由表 5、图 3 可知,菌株 HM22 与发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)的同源性为 99%,将其命名为发酵乳杆菌 HM22;菌株 HM24 与植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)的同源性为 100%,将其命名成植物乳杆菌 HM24;菌株 YF10042 与粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)的同源性为 100%,将其命名为粪肠球菌 YF10042。

表 4 生理生化试验结果[†]
Table 4 Physiological and biochemical experimental results of strains

菌株	接触酶	明胶液化	吡啶试验	H ₂ S 试验	蔗糖	山梨醇	甘露醇	纤维二糖	阿拉伯糖	鼠李糖
HM22	—	—	—	—	+	+	—	+	+	—
HM24	—	—	—	—	+	—	+	+	+	—
YF10042	—	d	—	—	+	+	+	+	—	+

[†] “+”为阳性;“—”为阴性;“d”为迟缓反应。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图2 菌株对生物胺的降解作用

Figure 2 Degradation of biogenic amines by strain

2.4 生物胺降解菌株的生长曲线

由图4可知,菌体在4 h时生长迅速,OD值显著上升,为对数生长期;10 h后生长缓慢,进入稳定生长期。

2.5 生物胺降解菌株的耐盐性能

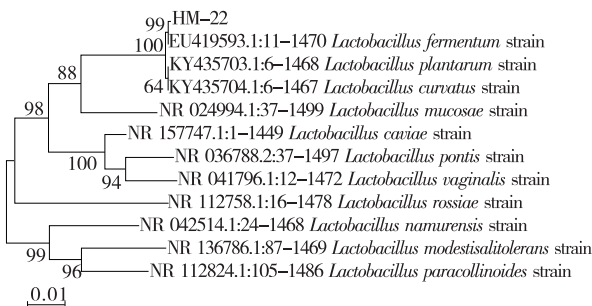
由图5可知,当盐浓度为2%~4%时,菌株 YF10042

的生长能力无显著差异;当盐浓度为6%时,菌株 YF10042的生长受到了一定的抑制;当盐浓度为10%时,菌株 YF10042的抑制率为68.30%。随着盐浓度的增加,菌株 HM22的耐受能力显著下降,当盐浓度为10%时仍有一定的耐受性;菌株 HM24的抑制率逐渐增大,当盐浓

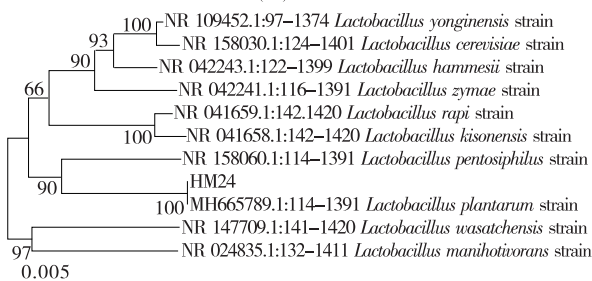
表 5 生物胺降解菌株的 16S rDNA 序列分析结果

Table 5 Identification results of biogenic amine degrading strains

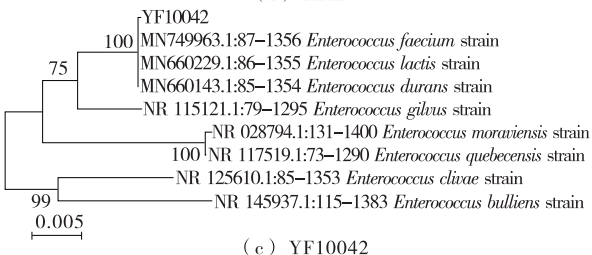
菌株	鉴定结果	同源性/%
HM22	发酵乳杆菌	99
HM24	植物乳杆菌	100
YF10042	粪肠球菌	100



(a) HM22



(b) HM24



(c) YF10042

图 3 菌株的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic trees of strains

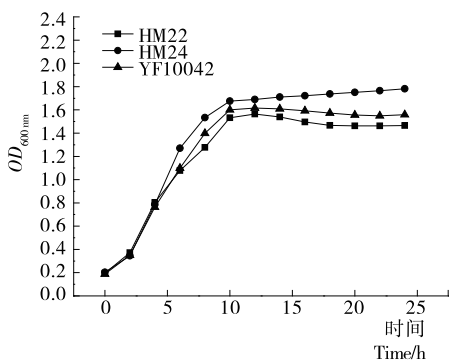


图 4 生物胺降解菌株的生长曲线

Figure 4 Growth curve of biogenic amine degrading strain

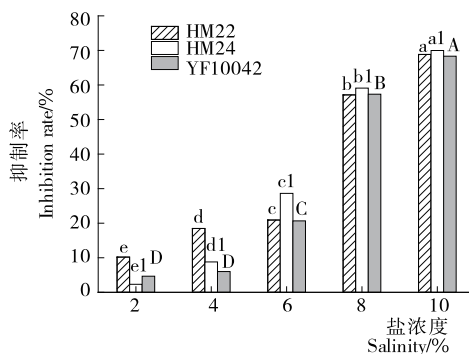
字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图 5 盐浓度对菌株的抑制率

Figure 5 Inhibition rate of different salt concentrations on strains

度为 6% 时其生长受到了抑制, 当盐浓度为 10% 时仍有一定的耐受能力。表明菌株对 NaCl 有一定的耐受能力, 有利于菌株在高盐发酵食品中生长繁殖, 为控制高盐发酵食品中生物胺含量奠定了基础^[18]。

2.6 pH 值对生物胺降解菌株生长能力的影响

由图 6 可知, 菌株 HM22 的最佳生长 pH 为 4.5~6.5, 菌株 HM24 的最佳生长 pH 为 5.5, 菌株 YF10042 的最佳生长 pH 为 4.5; 当 pH 为 3.5 时, 3 株菌株仍具有很好的生长能力, 菌株 HM24 的生长能力弱于 HM22 和 YF10042。当 pH 为 9.5 时, 菌株 HM24 的生长能力强于其他两株菌株, 3 株菌株仍能良好生长。因此, 生物胺降解菌株在低 pH 或高 pH 的发酵环境中均能发挥降解作用^[19-21]。

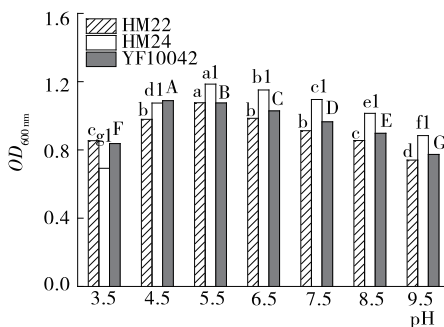
字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图 6 生物胺降解菌株在不同 pH 下的生长能力

Figure 6 Growth ability of biogenic amine degrading strains at different pH

3 结论

从实验室保存的不同来源的疑似乳酸菌中筛选出具有降解生物胺作用的菌株, 经 16S rDNA 序列分析, 分别鉴定为发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、粪肠球菌(*Enterococcus*

faecalis); 3 株菌株对色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺均有不同程度的降解能力,其中植物乳杆菌 HM24 的降解能力最优,对色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺的降解率分别为 $(25.90 \pm 2.30)\%$, $(35.75 \pm 2.71)\%$, $(27.61 \pm 3.94)\%$, $(25.91 \pm 3.76)\%$, $(22.54 \pm 2.64)\%$, $(34.55 \pm 1.90)\%$, $39.25 \pm 1.86\%$, $(55.66 \pm 7.08)\%$; 3 株菌株在 10% 的高盐浓度、pH 3.5 的酸性环境到 pH 9.5 的碱性环境条件下仍有存活和生长能力。后续将对其实际应用进行研究^[22-24]。

参考文献

- [1] OHNUMA S, HIGA M, HAMANAKA S, et al. An outbreak of allergy-like food poisoning[J]. Internal medicine, 2001, 40(8): 833-835.
- [2] 王光强, 俞剑葵, 胡健, 等. 食品中生物胺的研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 269-278.
- [3] ÖZOGUL Y, ÖZOGUL F. Biogenic amines formation, toxicity, regulations in food[M]. England: Royal Society of Chemistry publishing, 2019: 1-17.
- [4] 龚景龙. 发酵食品中的生物胺问题及控制对策[J]. 食品界, 2019(8): 57.
- [5] 肖洪, 丁晓雯, 梁苗峪, 等. 发酵食品中的生物胺及其控制研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 346-350.
- [6] 景智波, 田建军, 杨明阳, 等. 食品中与生物胺形成相关的微生物菌群及其控制技术研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(15): 262-268.
- [7] 邓红梅, 卢士玲, 李开雄. 传统中式香肠中产生生物胺氧化酶菌的分离鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(2): 57-60.
- [8] 吴燕燕, 钱茜茜, 陈玉峰, 等. 咸鱼中生物胺降解菌的筛选与降解特性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(18): 173-179.
- [9] 郝宇, 孙波, 张宇, 等. 高效液相色谱法测定东北农家酱中的 5 种生物胺[J]. 食品科学, 2019, 40(16): 343-349.
- [10] 曾雪晴, 李洪军, 袁琳娜, 等. 郫县豆瓣酱中生物胺含量和种类分析[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(19): 258-265.
- [11] 王丽芳, 王修俊, 郑君花, 等. 发酵辣椒中一株乳酸菌的分离鉴定及其生长特性的研究[J]. 中国调味品, 2014(6): 67-72.
- [12] 徐鑫, 王茜茜, 王晓蕊, 等. 传统农家大酱中耐盐性乳酸菌的分离与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(11): 33-40.
- [13] 方祥, 胡文锋, 张辉华, 等. 乳酸菌的分离、鉴定及其生长特性[J]. 中国微生物学杂志, 2000, 12(5): 262-264.
- [14] 孙霞. 四川香肠中生物胺降解菌的筛选鉴定及其初步应用[D]. 成都: 四川农业大学, 2016: 23.
- [15] 张楠, 杨勇, 李彬彬, 等. 四川自然发酵香肠中组胺降解菌的筛选鉴定及初步应用[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(1): 72-79.
- [16] 刘玉晗, 卢士玲, 陆静, 等. 乳酸菌中生物胺氧化酶菌株的筛选[J]. 现代食品科技, 2016, 32(4): 106-113.
- [17] 张菁. 黄豆酱发酵过程中生物胺形成的影响因素研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2014: 31.
- [18] 毛顺, 黄笠原, 张惠超, 等. 不同条件对两株乳酸菌降解生物胺的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 132-137.
- [19] 杨利昆, 付湘晋, 胡叶碧, 等. 鱼露中生物胺降解菌的筛选及其特性[J]. 食品科学, 2012, 33(11): 158-162.
- [20] FADDA S, VIGNOLO G, OLIVER G. Tyramine degradation and tyramine/histamine production by lactic acid bacteria and Kocuria strains[J]. Biotechnology Letters, 2001, 23(24): 2 015-2 019.
- [21] 张沁芳. 植物乳杆菌组胺分解酶的分离纯化及性质研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2018: 4.
- [22] 谢翀. 应用植物乳杆菌降低发酵香肠中生物胺含量的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015: 45.
- [23] 徐建芬, 毛杰琪, 魏晓璐, 等. 黄酒中不产生物胺乳酸菌的筛选及应用[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 20-25.
- [24] ALVAREZ M A, MORENO-ARRIBAS M V. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution[J]. Food Science & Technology, 2014, 39(2): 146-155.

(上接第 63 页)

- dation and antioxidant activity of a novel polysaccharide isolated from *Boletus speciosus* Forst[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, DOI: 10.1016/j.ijbio-mac.2012.01.021
- [22] OBAID ALDULAIMI A K, ABDUL AZZIZ S S S, BAKRI Y M, et al. Two new isoquinoline alkaloids from the bark of *Alphonsea cylindrica* King and their antioxidant activity[J]. Phytochemistry Letters, 2019, DOI: 10.1016/j.phytol.2018.11.022.
- [23] 刘艳灿, 袁杨, 翁艾慧, 等. 红葱头精油体外抗氧化及抑菌效果研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(11): 246-252.
- [24] 葛雪筠, 周德健, 王斌, 等. 响应面法优化中性蛋白酶提取

苦竹花多糖及多糖性质分析[J]. 食品科学, 2017, 38(14): 193-199.

- [25] 姜龙波, 王雷, 董吉林, 等. 小米糠水溶性非淀粉多糖抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(12): 98-101.
- [26] 刘燕, 罗游, 魏岱岳, 等. 红曲菌固态发酵对燕麦多糖体外抗氧化及抑制淀粉酶活性的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(5): 95-101, 130.
- [27] 韩晴. 不同来源水溶性大豆多糖功能特性及基本结构的比较研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019: 22-23.
- [28] 杨文丽, 杨光, 杨波. 纳豆多糖发酵工艺的优化及清除自由基研究[J]. 工业微生物, 2018, 48(6): 39-45.
- [29] 赵佳佳. 3 种大米蛋白肽的制备及其抗氧化活性比较[J]. 食品科技, 2018, 43(12): 191-195.